

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1902-1903. — N° 189

ÉTUDES sur L'HÉMOLYSE

EN DEHORS DES

Cultures Microbiennes et des Toxines

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 23 Juillet 1903

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

VICTOR MONTAGARD

Né à Caumont (Vaucluse), le 6 Novembre 1875

Interne des Hôpitaux de Lyon

Préparateur d'Hygiène à la Faculté de Médecine

Lauréat de l'Institut (Prix Bréhant 1901)

Membre de la Société d'Anthropologie de Lyon



LYON

IMPRIMERIE PAUL LEGENDRE & Co

14, rue Bellecordière, 14

1903

ÉTUDES SUR L'HÉMOLYSE

EN DEHORS DES

Cultures Microbiennes et des Toxines

DU MÊME AUTEUR

- La Saignée dans les cardiopathies.** *Loire Médicale*, 15 août 1899, p. 195.
- La Leucocytose de la variole** (en collaboration avec M. le professeur Courmont), *Soc. de Biol.*, 16 et 30 juin 1900; *Journal de Phys. et de Path. Gén.*, 15 juillet et 15 septembre 1900.
- Essais de sérothérapie dans la variole.** *Journal de Phys. et de Path. Gén.*, 15 septembre 1900.
- La Leucocytose de la vaccine chez l'homme et chez la génisse.** *Journal de Phys. et de Path. Gén.*, 15 janvier 1901, p. 63.
- La Variole à l'hôpital d'isolement à Lyon, 1899-1900.** En collaboration avec MM. Courmont, Bancel, Prat et Pravaz. *Presse Médicale*, 23 mars 1900; 135.
- Leucocytose dans la rougeole.** En collaboration avec MM. Courmont et Péhu, *C. R. Soc. de Biologie*, 26 juillet 1901.
- Les Lois de protection sociale en Allemagne.** *Province Médicale*, 20 juillet 1901, p. 337; 5 octobre 1901, p. 478.
- De l'Eosinophilie dans la maladie de Duhring.** *Lyon Médical*, 22 septembre 1901, p. 389 (en collaboration avec M. Carle), et thèse de Soumaire, Lyon 1901.
- Les Leucocytes.** Technique (Hématologie et Cytologie), n° 31 de l'Œuvre médico-chirurgicale du Dr Critzmann. Paris, Masson, 1902 (en collaboration avec M. le professeur Courmont).
- Occlusion intestinale.** Iléo-colostomie. Guérison. *Société des Sciences Médicales*, 28 mai 1902.
- Ostéomyélite subaiguë du tibia.** Arthrite purulente du genou, fusées purulentes fémorales, cachexie, amputation de la cuisse. *Soc. des Sc. Méd.*, de Lyon, 11 juin 1902.
- La Vision des couleurs dans la littérature contemporaine.** *C. R. Société d'Anthropologie*, de Lyon, mai 1902.
- Rapport sur la vaccination.** *Province Médicale*, 30 juin 1900, p. 306 et 317.
- Sur les pseudo-lymphocytes.** *Société Médicale des Hôpitaux de Lyon*, 15 décembre 1902.
- Sur l'origine de certains éléments mononucléés contenus dans les épanchements pleuraux.** *Journal de Phys. et de Path. Gén.*, n° 2, 15 mars 1903.

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1902-1903. — N° 189

ÉTUDES sur L'HÉMOLYSE

EN DEHORS DES

Cultures Microbiennes et des Toxines

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 23 Juillet 1903

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

VICTOR MONTAGARD

Né à Caumont (Vaucluse), le 6 Novembre 1875

Interne des Hôpitaux de Lyon

Préparateur d'Hygiène à la Faculté de Médecine

Lauréat de l'Institut (Prix Bréhant 1901)

Membre de la Société d'Anthropologie de Lyon



LYON

IMPRIMERIE PAUL LEGENDRE & C^{ie}

14, rue Bellecordière, 14

1903



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET..... DOYEN.
LACASSAGNE..... ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES
MM. PAULET, CHAUVEAU.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	{	MM. LÉPINE.
Cliniques chirurgicales.		BONDET.
Clinique obstétricale et Accouchements.		BARD.
Clinique ophtalmologique		PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.		JABOULAY.
Clinique des maladies mentales		FOCHIER.
Clinique des maladies des enfants		GAYET.
Physique médicale.		GAILLETON.
Chimie médicale et pharmaceutique		PIERRET.
Chimie organique et Toxicologie		WEILL.
Matière médicale et Botanique		MONOYER.
Parasitologie.		HUGOUNENQ
Anatomie		CAZENEUVE.
Anatomie générale et Histologie.		X...
Physiologie		LORTET.
Pathologie interne.		TESTUT.
Pathologie externe.		RENAUT.
Pathologie et Thérapeutique générales.		MORAT.
Anatomie pathologique.		TEISSIER.
Médecine opératoire.		AUGAGNEUR.
Médecine expérimentale et comparée.		MAYET
Médecine légale		TRIPPIER.
Hygiène		POLLOSSON (M.).
Thérapeutique		ARLOING.
Pharmacologie.		LACASSAGNE
		COURMONT (J.).
		SOULIER.
		FLORENCE.

PROFESSEUR ADJOINT

Physiologie, cours complémentaire DOYON, —

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes	MM. POLLOSSON(A.) agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx.	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale.	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique.	DEVIC, —
Accouchements	FABRE, —
Botanique	BEAUVISAGE, —

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX.	VALLAS.	NOVÉ-JOSSERAND.	CHATIN.
COLLET.	SIRAUD.	BERARD.	VILLARD.
BOYER.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BARRAL.	PIC	BORDIER.	FABRE.
MOREAU.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD
			CAUSSE, ch ..

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. J. COURMONT, Président ; M. NOVÉ JOSSERAND, Assesseur
MM. P. COURMONT et CHATIN, Agrégés

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE
M. le Professeur Jules COURMONT.

MÉDECIN DES HÔPITAUX

*A qui nous sommes heureux de témoigner nos
sentiments de vive gratitude, pour la bonté et la bien-
veillance qu'il a toujours eues pour nous.*

A NOS MAÎTRES DE LA FACULTÉ

M. le professeur S. Arloing.

M. le professeur J. Courmont.

M. le professeur agrégé P. Courmont.

*M. le docteur Nicolas et Lesieur, chefs des
travaux,*

*Nos plus vifs remerciements pour l'honneur qu'ils
nous ont fait en nous acceptant dans leur laboratoire,
et en nous prodiguant leurs conseils bienveillants.*

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX

Externat.

M. le professeur Gailleton.
M. le professeur M. Pollosson.
M. le professeur Jaboulay.
M. le professeur agrégé Rochet.

Internat

M. le docteur Chappet.
M. le professeur J. Courmont.
M. le docteur Lyonnet.
M. le professeur Jaboulay.
M. le professeur agrégé Rollet.
M. le docteur E. Josserand.
M. le docteur Albertin.
M. le professeur agrégé Pic.
M. le professeur agrégé Roque.
M. le docteur Raynaud (Saint-Etienne).

Hommage de sincère reconnaissance, pour la bienveillance et l'intérêt qu'ils nous ont témoignés.

MM. les professeurs Courmont et Jaboulay, M. le professeur agrégé Rochet ont été pour nous plus que des maîtres bienveillants, nous leur devons la reconnaissance du malade qu'ils ont soigné et guéri, grâce à leur science et à leur dévouement.

PRÉFACE

Ce travail n'a pas d'autre prétention que d'exposer assez clairement les nombreuses théories qui se dégagent des phénomènes observés concernant l'hémolyse.

Notre rôle a été surtout de coordonner et de réunir les nombreux travaux parus sur cette question, vieille de quelques années à peine, et pourtant déjà tant étudiée. On se retrouve mal au début parmi les travaux français et étrangers, si nombreux et où les mêmes hypothétiques substances ont reçu des noms différents, Nous avons essayé de donner en un tableau les synonymies principales.

Systématiquement, nous avons éloigné de cette étude la question des hémolyses dans les cultures microbiennes. Des expériences, entreprises par nous, nous avaient donné des résultats si divers que nous pensons qu'il est actuellement impossible d'écrire une revue des travaux parus sur ce sujet.

Nous poursuivons actuellement une étude plus complète sur les cytotoxines du sérum des animaux immunisés, qui sera le complément de ce travail inaugural.

V. M.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553627_0092

CHAPITRE PREMIER

Définition

I

Lorsqu'on laisse tomber dans de l'eau distillée, une goutte de sang on aperçoit une légère trainée louche. Si on examine une goutte du mélange au microscope, on voit les globules se gonfler, prendre la forme sphérique, puis il s'établit un courant d'endosmose et d'exosmose. L'eau pénètre dans le globule; le corps globulaire, le stroma de Rollet, laisse diffuser dans l'eau un liquide jaune rougeâtre, qui se mêle à l'eau et la teint en jaune. Il reste alors un globule incolore dont l'enveloppe, trop large, prend un aspect chiffonné, en nageant dans un liquide faiblement coloré. Si on observe le liquide, quelques

heures après, le stroma globulaire a disparu à son tour, dissous par l'eau. On vient d'observer dans son type le plus simple et le plus complet à la fois le phénomène de l'hémolyse.

On sait, depuis Hamburger et Donders que le sang mélangé à des liquides de densité trop faible ou trop forte laisse diffuser sa matière colorante. Une méthode d'analyse du sang, la méthode de Bouchard, est basée sur ce principe. Bouchard recommande de se servir pour diluer le sang à analyser d'une solution de sucre de canne dont la densité soit de 1026 ; de cette façon les hématies restent intactes.

Hamburger avait même déterminé, pour plusieurs sels, la concentration qu'il fallait donner à la solution pour empêcher la diffusion de l'hémoglobine. Pour le chlorure de sodium, par exemple, la solution à 6,1 ‰ est isotonique avec les hématies. Cependant les hématies peuvent, sans perdre leur matière colorante, laisser diffuser d'autres éléments.

En 1884, Raoult montra qu'une solution renfermant, pour un même poids d'eau, un même nombre de molécules dissoutes, présentait le même point de congélation. D'où on tire la conclusion que les solutions salines ayant un même point de congélation Δ sont isotoniques. L'eau distillée congèle à 0° ; les solutions salines se congèlent au-dessous de 0° , Le sérum sanguin à $\Delta = 0^{\circ} 55$, ce qui équivaut à une solution à 6,9 ‰ de NaCl, et à 8,6 ‰ de sucre.

En dehors de ces conditions physiques, on sait que les globules rouges de certaines espèces ne vivent pas dans un sérum normal appartenant à une

autre espèce. M. Renaut rapporte dans son article du Dictionnaire Dechambre (1878) l'expérience suivante : « Si nous injectons dans le sang d'une grenouille quelques centimètres cubes de sang défibriné de cochon d'Inde, au bout de trois ou quatre heures les globules rouges du mammifère sont en majeure partie décolorés, c'est-à-dire dépouillés de leur hémoglobine, et les globules elliptiques du bactracien sont notablement altérés; ils sont semés de vacuoles ».

On sait actuellement que ce phénomène est plus complexe et plus général. Certaines espèces ont un sérum qui peut conserver les hématies d'espèces voisines; dans d'autres cas, on peut voir un sérum hémolytique pour les globules d'un animal de même espèce que celui qui a fourni le sérum.

Pour expliquer ces phénomènes, on a proposé plusieurs théories et suivant la conception pathogénique des auteurs, les substances qui produisent l'hémolyse ont pris des noms différents.

Il est, actuellement, difficile de lire un article sur l'hémolyse, si on n'a préalablement étudié et retenu la synonymie de ces qualificatifs. Afin de permettre ces lectures et d'apporter plus de clarté dans la lecture de ce travail, voici disposés sous forme de tableau les principaux noms attribués aux substances hémolytantes.

Les noms entre parenthèses désignent le nom de l'auteur qui les a formés ou employés le plus souvent.

Hémolysine (Ehrlich).
Globulolysine.
Substance globulicide.
Substance antihématique (Bordet).

1.	2.
Alexine (Buchner). Addiment (Ehrlich). Complément. Cytase de Metchnikoff.	Substance sensibilisatrice (Bordet). Immunkörper (Ehrlich). Anticorps. Zwischenkörper (Ehrlich). Amboceptor (Ehrlich). Fixateur (Metchnikoff). Desmon (London).
Existe normalement dans les sérums neufs. Propriétés : disparaît par le chauffage à 55°. L'alexine d'un animal n'agit pas sur les globules de celui-ci, mais agit sur les hématies des autres.	Est un produit développé artificielle- ment propre au sérum des vaccinés. Résiste au chauffage à 55°. Résiste au lavage dans l'eau physiolo- gique Prépare le globule à être attaqué par l'alexine (analogie avec la bactério- lyse)

Historique.

Avant d'aborder l'étude de l'hémolyse, disons quelques mots des hématies.

Les hématies sont les éléments caractéristiques du sang des vertébrés. On distingue deux sortes d'hématies : les hématies primaires ou nucléées (sang des vertébrés non mammifères, et sang des embryons chez les mammifères), et les hématies secondaires

sans noyaux, que l'on retrouve chez les mammifères adultes. L'hématie est composée d'un stroma incolore représentant environ $1/10$ de son poids et d'un pigment, l'hémoglobine représentant les $9/10$ du poids de l'élément. On arrive très facilement à dissocier le stroma et à mettre en liberté l'hémoglobine. Les hématies ont des formes et des dimensions variables ($80\ \mu$ protéé, $2\ \mu$ chevrotin de Java). Le nombre des hématies au millimètre cube est aussi très variable (160.000 chez le triton, 5 millions chez l'homme, 19 millions chez la chèvre).

Disons enfin que chez l'homme 100 grammes de sang contiennent 52 grammes de plasma et 48 gr. de globules ; chez le cheval, il y a 66 grammes de plasma et 34 grammes de globules. Ces notions sommaires permettront de mieux comprendre les expériences sur l'hémolyse.

HÉMOLYSE DES HÉMATIES ANUCLÉÉES

C'est Buchner, le professeur de Munich, qui a eu incontestablement le mérite d'attirer l'attention sur les propriétés lysinantes des humeurs. Dans une suite de travaux dont on trouvera l'indication à l'index bibliographique, il a montré le rôle de la bactériolyse et de l'hémolyse dans les phénomènes de l'immunisation. Il a même échafaudé une théorie de l'immunité qui, actuellement, paraît, mieux que la théorie phagocytaire, expliquer les faits connus. Quelques-uns de ses élèves ont pu dépasser sa pen-

sée, sans enlever le mérite de ses découvertes. Des chimistes, Emmerich et Tsuboi, ont vu dans les alexines des résultats de réaction purement chimiques ; Ehrlich et Morgenroth ont, de leur côté, étudié l'hémolyse et ont expliqué ces phénomènes à la lueur de la théorie si séduisante des chaînes latérales.

Nuttall a observé un des phénomènes les plus caractéristiques des alexines, leur destruction à 55°.

En 1894, Froenkel et Sobernheim montrent que le choléra sérum chauffé à 55° perd son pouvoir bactéricide.

En 1895, J. Bordet, dans les *Annales Pasteur*, étudie les relations existantes entre les sérums bactéricides et les sérums hémolytiques et, dans de nombreux articles parus dans les *Annales* en 1896-1898, ce même auteur confirme les expériences de Buchner et montre que le sérum d'espèce différente agglutine puis détruit les globules d'une autre espèce et que les deux phénomènes : agglutination et destruction sont sous l'influence de deux substances différentes. La substance agglomérante résiste à un chauffage à 55° pendant 30 minutes ; tandis que la substance hémolytique a disparu.

Les actions hémolytiques se calquent donc sur les actions bactériolytiques. De même que le sérum normal de cheval agglutine légèrement le vibron cholérique, le coli, l'Eberth et le bacille du tétanos, de même le sérum de lapin agglutine les hématies du cobaye.

On connaît mal encore le rôle qui revient aux

hématies, aux leucocytes dans le phénomène de l'hémolyse. Il est difficile d'isoler les deux espèces de globules du sang, sans modifier leurs conditions de vitalité et de résistance. En revanche, les expériences sont plus nombreuses concernant la résistance du noyau des hématies nucléées vis à vis des agents destructeurs.

HÉMOLYSE DES HÉMATIES NUCLÉÉES

Dans cette question de l'hémolyse, on avait longtemps laissé de côté l'étude des hématies nucléées. Elle est cependant pleine d'aperçus théoriques importants. Malheureusement, la question n'est pas résolue entièrement.

Krompecher admet que les sérums hémolytiques obtenus en partant du sang d'animaux à hématies nucléées sont hémolytiques *in toto* pour ces dernières. Le noyau se dissoudrait aussi facilement que le stroma.

Il semble pourtant que cette opinion soit exagérée. Dans une étude très précise, Landau a montré récemment que la karyolyse fait défaut et que le noyau est beaucoup plus résistant que le protoplasma.

Pour le démontrer, Landau injecte à des lapins du sang défibriné de *rana esculenta*, à la dose de 4^{cc}. 4 jours après l'injection, le sang de ces lapins hémolysait les hématies de la grenouille, en une heure, à 1/10. Normalement, le sang de grenouille n'est pas hémolysé à 1/10^e par le sang de lapin.

Dans ces hémolyses, le noyau se déplace, gagne la périphérie, il ne persiste, à la fin, qu'un mince rebord coloré autour du noyau. Il n'y a pas de karyolyse.

C'est le phénomène que l'on peut observer quand on étudie des leucocytes humains restés longtemps dans un liquide organique, un épanchement pleurétique, par exemple. On voit alors la désagrégation des hématies ; il ne persiste que les noyaux des leucocytes, comme nous l'avons montré à la suite de Wolff, dans un travail paru dans le *Journal de Physiologie* (15 mars 1903).

Pour Ehrlich et Morgenroth, l'analogie entre l'hémolysine et la toxine irait encore plus loin que pour Bordet. De même qu'il y a des toxoïdes peu toxiques, capables cependant de produire des antitoxines, il existe des complémentoides.

CHAPITRE II

Mécanisme de l'Hémolyse

L'hémolyse n'est bien connue que grâce à l'étude de la bactériolyse. C'est le phénomène de Pfeiffer qui a attiré l'attention sur les dissolutions cellulaires, que la cellule soit un microbe ou un globule sanguin (1).

L'histoire du mécanisme de l'hémolyse se calque sur le mécanisme de la bactériolyse. Celle-ci a fait progresser celle-là. Cependant on retrouve au début l'étude de la plasmolyse. C'est un botaniste H. de Vries qui étudia le premier l'effet des solutions salines sur les cellules végétales. Plaçons dans une

(1) Certains auteurs veulent enlever la qualité de cellule à l'hématie humaine; on est bien cependant forcé d'admettre que l'hématie nucléée des oiseaux ou que l'hématie du fœtus sont des cellules. Nous entendons par cellule toute parcelle vivante : bactérie, globule rouge.

solution à 10 ‰ de chlorure de sodium, le produit de râclage de la nervure médiane d'une feuille de *tradescantia discolor*. Les cellules épidermiques sont contenues dans des logettes cellulosesques inextensibles et assez résistantes. Sous l'effet de la solution chlorurée, le protoplasma cellulaire abandonne les parois des logettes, et vient se réunir en boule, dans un des coins de la logette. Si on prend ces cellules et qu'on les place dans de l'eau distillée, elles reprennent leur aspect primitif, puis le protoplasma se gonfle et distend les logettes. C'est là le phénomène de plasmolyse, observé par Nœgeli. Réalisée par la première expérience, cette plasmolyse n'était pas totale et a disparu sous l'influence de l'immersion dans de l'eau distillée. La paroi de la cellule végétale se comporte comme une paroi semi-perméable : il se fait un courant osmotique de l'endroit où la tension est plus forte vers l'endroit où elle est moindre.

HÉMOLYSE PAR LES COMPOSÉS CHIMIQUES

Hamburger (61) appliqua aux hématies ce que de Vries avait observé pour les cellules du *tradescantia*. Le globule rouge se comporte comme la cellule végétale. Placé dans une solution hypertonique, il perd ses liquides protoplasmiques, son enveloppe devient trop grande et se plisse. Le globule se ratatine, on dit qu'il est crenelé, déformé,

c'est la picnose des auteurs allemands. Placé dans un liquide à tension faible, il se gonfle, s'arrondit puis éclate et laisse diffuser son hémoglobine au dehors.

Etant donnée la tension osmotique du sang des mammifères, Hamburger calcula la tension du sang de diverses espèces. Si nous représentons par 1 la valeur osmotique du sang des mammifères, celle du sang des oiseaux est de 7/10, 6/10 pour les poissons et 3/10 pour la grenouille.

Mais en dehors des variations dans le titre de la solution, certaines substances provoquent l'hémolyse à tous les titres. Ce sont les *poisons* du sang. Les composés ammoniacaux (chlorure d'ammonium, urée, ammoniaque); le chloroforme, l'alcool, l'éther, la glycérine, sont parmi les plus usuels. Gryns donna de ces phénomènes une explication physique. Ces poisons du sang agissent sur le globule, parce que leurs molécules peuvent facilement traverser la paroi cellulaire. On peut modifier la rapidité de l'hémolyse par ces substances, en ajoutant à la solution d'urée, par exemple, une solution de chlorure de sodium; la solution d'urée arrive à ne plus hémolyser les hématies. On peut, de la même façon, neutraliser les effets du chlorure ammonique, un des plus actifs poisons du sang, en ajoutant du nitrate de potasse. L'explication de ces phénomènes a été donnée par Gryns. Les membranes cellulaires seraient perméables à certains *ions* et ne le seraient pas à d'autres. Les alcools mono et triatomiques (glycérine) pénètrent facilement l'enveloppe cellulaire, les tétratomiques (érythrites), passent plus difficilement,

et les alcools hexasatomiques (mannite) ne passent pas du tout.

*Action des alcaloïdes et des glycosides
sur les hématies.*

Un phénomène très comparable à l'hémolyse par le sérum a été découvert par Hédon. C'est l'hémolyse par la solanine.

Si on met en présence une solution faible de solanine peu active vis-à-vis des globules rouges (pour Basleford, les sels de solanine ne seraient même pas toxiques pour les hématies) et que l'on ajoute au milieu une trace d'alcali, on obtient une globulolyse intense. L'alcalin joue ici le rôle de la sensibilisatrice.

Malgré ses analogies, on n'est pas parvenu à immuniser un animal contre les alcaloïdes ou contre la solanine. Les animaux injectés maigrissent, leur urine devient acide, l'hémolyse ne se produit plus. Si on ajoute des traces d'alcalin, on a de nouveau une intense globulolyse.

*Action de la bile fraîche sur les hématies du lapin
normal.*

La bile fraîche normale, diluée à 1/10 dans une solution salée à 80/00, est très peu hémolytique pour les hématies du lapin. En 20 minutes, à la température de la chambre (18°), l'hémolyse est à peine marquée.

HÉMOLYSE PAR LES SÉRUMS

Dès 1887, Hamburger étudiait l'action du sérum dilué sur les globules. Il avait calculé la quantité de chlorure de sodium qu'il faut ajouter à l'eau distillée pour empêcher l'hémolyse. Pour la grenouille, la solution minima nécessaire pour conserver les hématies était au titre de 2 grammes 10 pour 1000. Or, le sérum pouvait empêcher l'hémolyse en dilution avec 2 parties 5 d'eau distillée. Le sérum de grenouille a donc une tension équivalente à $\frac{3.5 \times 0.21}{100}$

≈ 0.73 ‰. Le sérum de bœuf donnait 1.12 ‰; le sérum de cheval 0.52 ‰. Cette méthode donne des résultats concordants avec la méthode cryoscopique.

En 1892, Landois et Buchner remarquent que certains sérums se comportent comme l'eau distillée vis-à-vis des hématies appartenant à des animaux d'une autre espèce. L'hémolyse, ici, est plus difficilement explicable, et l'explication toute physique donnée par Hamburger et Gryns paraît insuffisante. On tend à admettre, dans le sérum hémolytique, une substance capable de produire cette hémolyse même dans une solution isotonique au sérum dans lequel vivaient les hématies étudiées.

Bordet, en 1895, montre que cette toxicité du sérum A, pour des hématies B, peut être accrue, si on injecte dans les tissus de l'animal ayant fourni le

sérum A, du sang défibriné appartenant à l'animal de l'espèce B.

Par quel mécanisme se produit cette destruction des hématies ? Les explications sont différentes. La substance hémolytique est composée de deux parties : l'alexine, qui existe normalement dans le sérum et la sensibilisatrice qui est le résultat des injections de sang défibriné. L'alexine ne peut détruire les hématies que lorsque celles-ci ont été sensibilisés.

Le sérum hémolytique, chauffé à 55° ou 60°, pendant une demi-heure, perd la propriété de détruire les globules du lapin ; toutefois, il est encore capable d'agglutiner ces globules.

On peut restituer à ce sérum, devenu inactif par le chauffage, sa propriété de détruire les hématies du lapin. Si on ajoute au mélange de globules de lapin et de sérum de cobaye inactivé, quelques gouttes de sérum de lapin neuf ou de cobaye neuf, on voit les hématies se lysiner assez rapidement. C'est cette expérience de Bordet qui démontre la présence des deux substances ; l'une, l'alexine, est thermolabile ; elle disparaît par le chauffage à 55° ; l'autre, l'Immunkorper, est thermostabile, elle résiste au chauffage à 55° ; elle résiste également au lavage à l'eau physiologique des globules impressionnés par elle.

Cependant, il est inexact de dire que le sérum actif chauffé à 55°, mélangé à des hématies de lapin ne les attaque pas. Il y a toujours un léger degré d'hémolyse. Elle est due à l'alexine contenue, en petite quantité, il est vrai, dans le sérum normal du lapin,

que l'on a introduit dans le mélange, involontairement, en laissant tomber la goutte de sang de lapin sur laquelle porte l'expérience.

Le sérum actif de cobaye traité est inactif sur des hématies de cobaye normal. Il est donc spécifique sur les hématies de lapin. Cette spécificité n'est, toutefois, pas absolue, et les hématies du rat, par exemple, qui sont légèrement hémolysées par le sérum du cobaye normal, sont fortement hémolysées par le sérum de cobaye traité par les injections de sang de lapin. Cette hémolyse vis-à-vis des hématies du rat est, toutefois, moins prononcée que celle observée vis-à-vis des hématies du lapin.

Ce qui est vrai *in vitro*, l'est aussi *in vivo*. Si, dans le péritoine d'un cobaye immunisé contre le sang de lapin, on injecte du sang défibriné de lapin, celui-ci est très rapidement hémolysé. Si, un quart d'heure après l'injection, on retire le liquide injecté, on remarque qu'il est devenu rose et limpide, et qu'il ne contient plus que des débris d'hématies, à l'examen microscopique.

Sous la peau, le phénomène est beaucoup plus lent à se produire.

Si, maintenant, on injecte dans le péritoine d'un cobaye neuf du sang défibriné de lapin, les hématies se conservent longtemps et sont absorbées finalement par les macrophages. Si on ajoute quelques gouttes de sérum actif de cobaye au mélange de globules de lapin, l'hémolyse se produira, dans le péritoine du cobaye, aussi bien que nous l'avions vu se produire *in vitro*.

Pluralité des alexines. — L'analogie évidente entre le phénomène de Pfeiffer et l'hémolyse fit tout de suite se demander si l'alexine bactériolytique et l'alexine hémolytique étaient deux substances différentes, ou ne faisaient qu'une seule et même substance.

Bordet croit à l'UNITÉ DES ALEXINES. Voici les raisons qu'il donne pour expliquer cette unité.

1^o Leur mécanisme altérant est identique, elles sont très altérables et se détruisent à 55°.

2^o Elles sont toutes deux répandues dans le sang et dans l'exsudat péritonéal, et elles ne se retrouvent pas dans le liquide de l'œdème sous-cutané.

C'est aussi l'opinion de Buchner.

Metchnikoff, dans son livre sur « l'Immunité », et dans les *Annales Pasteur* 1899, admet DEUX ALEXINES liées aux deux grandes catégories de phagocytes : les micro et les macrophages. Les hématies sont capables d'absorber la sensibilisatrice, puis elles se laissent pénétrer par les deux alexines, dont une seule est active.

Tarassévitch, dans le laboratoire de Metchnikoff, a montré que les organes macrophagiques et les glandes digestives étaient seuls doués de propriétés hémolysantes, tandis que la moelle osseuse, source des microphages, était privée de propriétés hémolytiques, mais possédait une bactériolysine. Il y aurait donc deux cytases distinctes, l'une produite par les macrophages, c'est la macrocytase ou cytase hémolytique ; l'autre est la microcytase ou cytase bactériolytique.

Gengou, en étudiant les alexines des sérums normaux, était arrivé aux mêmes résultats.

Mais, actuellement, c'est l'école d'Ehrlich qui paraît l'emporter sur cette question, en admettant la PLURALITÉ DES ALEXINES.

La pluralité cadre mieux avec les faits. Ehrlich et Morgenroth ont multiplié les expériences *in vitro* et *in vivo*, pour arriver à démontrer cette pluralité. On les trouvera relatées dans les articles du *Berliner Klinische Wochenschrift* (52).

Neisser (113), un élève d'Ehrlich, a montré, de son côté, que, si on ajoute des bactériidies charbonneuses à des sérums de lapin, ces bactériidies lui font perdre son pouvoir bactéricide, sans faire disparaître le pouvoir hémolytique. Hémolysine et bactériolysine sont donc bien deux substances différentes. Ces expériences ont été confirmées récemment par L. Rémy (124).

D'autre part, Wechsberg avait, à la suite de Neisser, vérifié ce même phénomène de la saturation de la bactériolysine et de la conservation de l'hémolysine. Cet auteur étudiait l'action du sérum de chèvre vis à vis des hématies du cobaye et du vibrion de Nordhofen.

Ces expériences de l'école d'Ehrlich laissent, toutefois, prise à une objection de Bordet. La cytase n'est pas entièrement saturée par les éléments normaux ; elle est saturée par les éléments sensibilisés. Pour affirmer qu'il existe deux cytases, il faudrait donc neutraliser la cytase hémolytique par des hématies

sensibilisées. Les élèves d'Erlich expérimentaient sur des hématies normales.

Un des arguments les plus valables donné par Ehrlich et Morgenroth nous paraît le suivant :

Le sang de lapin, traité par le sang défibriné de bœuf, est capable de dissoudre les hématies du bœuf et de la chèvre.

Si on inactive le sérum de ce lapin en lui faisant dissoudre des globules rouges du bœuf et que l'on centrifuge, le liquide retiré est sans action sur les globules rouges de la chèvre. Si on fait l'expérience inverse et que l'on neutralise le sang de ce lapin avec du sang de chèvre, le liquide centrifugé dissout encore les hématies du bœuf. La conclusion semble s'imposer. Il y a des corps immuns différents.

S. London, dans un long travail des *Arch. de Méd. de Saint-Petersbourg* (205, 325, 1901), conclut à l'existence de la pluralité des alexines dans le sérum d'un même animal.

En somme, malgré les objections de Bordet, la pluralité des alexines paraît réelle. Dans une étude sur le sérum de rat blanc, Rémy (124), élève de Metchnikoff, a démontré que l'alexine bactéricide du rat, vis à vis de la bactériodie charbonneuse, est incomplètement détruite par le chauffage à 56° et qu'elle est alors incapable de réactiver les hémosérums préalablement chauffés. Cette alexine n'est donc pas hémolytique, et elle est bactériolytique.

Il y a donc, dans le sérum du rat blanc, deux alexines différentes.

LOIS RÉGISSANT LES CONDITIONS DE PRODUCTION
DE L'HÉMOLYSE

On a essayé de déterminer les conditions favorisant l'hémolyse. De ces conditions, quelques-unes sont connues et même certains auteurs, Arrhenius et Madsen, ont fixé les lois régissant les phénomènes hémolytiques.

La chaleur accélère la vitesse de l'hémolyse. Cette accélération correspond à celle que l'on observe pour des réactions chimiques simples. On sait que la vitesse d'inversion du saccharose par les acides s'accroît de 1.93 à 1 pour une élévation de 10° de température. La vitesse d'hémolyse par l'ammoniaque augmente dans le rapport de 2.76 à 1, par la toxine dans le rapport de 3.04 à 1.

La vitesse de l'hémolyse augmente proportionnellement au carré de la durée d'action de la toxine ou de l'alcali.

La proportion de globules hémolysés augmente proportionnellement au carré de la quantité de toxine ajoutée aux globules.

Représentons par x la proportion de globules hémolysés après une durée égale à t par une quantité a de toxine, on a

$$x = K. a^2 t^2$$

(K représente une constante.)

A. — THÉORIES PHYSICO-CHIMIQUES

Elles furent les premières invoquées pour expliquer l'hémolyse. Hamburger et de Vries considéraient les globules rouges et les cellules végétales comme de microscopiques récipients enveloppés de tous côtés par une membrane semi-perméable. Le contenu est liquide et contient des sels en solution. Ces récipients cellulaires vont se comporter, au point de vue des échanges, comme la vessie des physiciens. Pour certains sels, la dialyse sera facile et l'absorption s'en ressentira ; d'autres, les sels de potassium, ont des coefficients d'absorption faibles. Mais la membrane cellulaire conserve certaines substances non dialysables. L'hémoglobine est du nombre. L'hémolyse ne sera donc possible que par effraction de la paroi de l'hématie, et elle sera incapable de retourner dans la cellule rouge qu'elle a quittée. Cette hypothèse se vérifie expérimentalement. Si on ajoute, en effet, du chlorure de sodium à 10 ‰ dans une émulsion de sang qui vient de perdre son hémoglobine, l'hémoglobine est incapable de retourner dans l'hématie.

Les théories physiques expliquent bien l'hémolyse par l'eau distillée ; elles sont moins séduisantes quand on essaye de leur demander la raison de l'hémolyse par les sérums. On admet alors que les substances hémolytiques agissent sur les parois cellulaires.

« Les choses se passeront, dit Nolf, comme si

l'on ajoutait à un mélange de trois liquides, non miscibles, une substance inégalement soluble dans ces trois liquides. Le partage se fera, entre les trois couches de liquide, suivant les coefficients de solubilité de la substance dans ces trois dissolvants ».

L'expérience des disques de gélatine de Hofmeister démontre que la présence de sels dans la gélatine peut augmenter la perméabilité de celle-ci pour l'eau. Le même phénomène se passe dans l'hématie. Les théories physiques expliquent mal les phénomènes complexes de neutralisation d'une cytase et de persistance d'une autre cytase, dans un même liquide, n'ayant subi aucune modification apparente dans son isotonie.

Emmerich et Tsuboi considèrent les propriétés lysinantes des sérums comme résultant d'un phénomène purement chimique aussi. La substance bactéricide du sérum serait la sérine. Si on chauffe à 55°, 60°, la molécule albuminoïde se décompose, la sérine, dissociée, n'agit plus, et le sérum est devenu incapable de lysiner les bactéries ou les globules.

Pour Vaughan et Kossel, ce sont les nucléines et l'acide nucléinique qui sont les agents actifs des leucocytes et du sérum. Ces nucléines détruiraient les bacilles et produiraient le phénomène de Pfeiffer.

B. — THÉORIES HUMORALES

C'est Buchner qui a, le premier, attiré l'attention sur le rôle des albuminoïdes sécrétés par les leuco-

cytes et leur a fait jouer le premier rôle dans la production des lysines. Celles-ci sont contenues dans le sérum, et c'est celui-ci qui sera le facteur de l'immunité. La théorie de Buchner fut admise par Denys de Louvain. Bastin, élève de Denys, montre la neutralisation des toxines par les sérums contenant des substances antitoxiques et bactéricides.

En 1893, la théorie humorale se précise. Denys se demande d'où proviennent les substances bactéricides du sérum et il est amené à conclure qu'elles sont le résultat d'une sécrétion leucocytaire. Le sang, privé de ses globules blancs, est aussi privé de son pouvoir antitoxique.

Un élève de Denys, M. Havet, montre que le pouvoir bactéricide du sang diminue à mesure que diminuent les leucocytes.

En Allemagne, de nombreux auteurs se sont efforcés d'extraire du sang les substances bactéricides; ils ont fait des extraits leucocytaires (Jacob, Lowit).

Schattenfroh a extrait des leucocytes, une substance active se détruisant à 85°.

C. — THÉORIE PHAGOCYTAIRE

Le pouvoir bactéricide des sérums doit être interprété, suivant l'école de Metchnikoff, dans le sens d'un pouvoir digestif. Le pouvoir bactéricide n'existe pas en tant que substances préformées dans le leucocyte; le phagocyte se défend et digère son ennemi.

« C'est le pouvoir de digérer, dit Besredka, qui est, à notre sens, le caractère essentiel du leucocyte, le pouvoir de tuer n'est qu'une phase préliminaire nécessaire pour faciliter la digestion, telle l'insalivation qui précède la digestion stomacale ».

CHAPITRE III

Technique

Pour étudier les phénomènes d'hémolyse il faut d'abord obtenir un sérum hémolytique et, en second lieu, doser le pouvoir hémolysant de ce sérum.

A. — PRÉPARATION DES ANIMAUX QUI DOIVENT FOURNIR LE SÉRUM HÉMOLYTIQUE

Injection intra-péritonéale de sang défibriné.

Buchner a montré que le sérum de lapin hémolyse les globules du cobaye, et qu'on peut artificiellement renforcer cette propriété.

L'expérience la plus simple consiste à injecter dans le péritoine du cobaye 10 cc. de sang défibriné de lapin. On répète cette expérience cinq ou six fois (on peut la répéter plus longtemps sans grave inconvénient) à quelques jours d'intervalle.

Le sérum du cobaye est devenu très actif vis-à-vis des globules du lapin. Le procédé est le même pour toutes les injections de sang défibriné. On obtient le sang défibriné très facilement en recevant le sang aseptiquement dans un flacon stérilisé contenant des perles. On agite le sang pendant 5 à 10 minutes et la coagulation ne se fait plus.

Si on veut immuniser des animaux contre le sang humain, le procédé le plus pratique est l'emploi du sang placentaire. On prend un flacon à grande ouverture, stérilisé et contenant des perles. On flambe l'extrémité du cordon ombilical et on laisse le sang s'écouler dans le flacon, en malaxant le placenta. Si on a soin de recueillir ce sang immédiatement après la section du cordon, on peut le conserver aseptique. Il est utilisable de suite, et les animaux auxquels nous en avons injecté, n'ont pas présenté, en général, de troubles graves. Les lapins présentent, cependant, un amaigrissement progressif. Quelques animaux injectés depuis plusieurs mois, meurent même sans qu'on trouve à l'autopsie l'explication de cette mort.

Injection des sérums toxiques.

Kossel, en 1898, montre que les hématies du lapin sont très sensibles au sérum d'anguille. Les globules rouges des lapins immunisés contre ce sérum d'anguille ne sont plus détruits par lui. Cette immunisation est plus difficile à obtenir; en raison de la toxicité de ce sérum. Les cobayes meurent rapidement, même si on injecte de faibles doses.

Les lapins résistent mieux. On commence, au début, par leur injecter 0,05 cc. de sérum d'anguille sous la peau. Si l'animal ne présente pas de phénomènes graves et, en particulier, s'il ne maigrit pas, on lui injecte 0 cc. 1. On renouvelle les injections deux fois par semaine.

Les chiens supportent bien le sérum d'anguille à la dose de 0 cc. 5. On peut même employer la voie veineuse, si on veut plus rapidement obtenir une antitoxine. Mais de tous les animaux, comme l'a montré Tchistovitch, c'est la chèvre qui s'immunise le plus facilement ; elle fournit un sérum actif à la quatrième injection de 0 cc. 5.

B. — MENSURATION DU POUVOIR HÉMOLYSANT

Pour mesurer le pouvoir hémolysant d'un sérum ou d'un liquide quelconque, on emploie une dilution de ce liquide dans une solution isotonique au sérum qui contenait les globules à étudier.

Le sérum dont on veut doser le pouvoir hémolytique doit être recueilli aseptiquement, afin d'éviter l'intervention des lysines microbiennes. Si on ne peut recueillir aseptiquement le sérum (cas le plus fréquent en clinique), on expérimentera le sérum immédiatement après l'avoir recueilli.

La solution employée pour diluer le sérum est la solution de chlorure de sodium à 7 ‰. Cette solution est à la limite de l'hypoisotonie et permet, par conséquent, d'apprécier un pouvoir hémolytique faible.

On a donc des tubes renfermant une dilution dans l'eau salée du liquide à examiner à $1/40^e$, $2/40^e$, $3/40^e$, $4/40^e$, etc., jusqu'à $10/40^e$.

Dans chaque tube on fait tomber ensuite une goutte de l'émulsion de globules à examiner. On agite les tubes afin d'avoir un mélange homogène; on a, d'ailleurs, le soin de toujours avoir un ou deux tubes témoins (dans lesquels on a simplement une goutte d'émulsion de globules et 40 gouttes de solution physiologique).

On place les tubes dans l'étuve à 37^o , et on les examine après une heure, 2 heures et 6 heures en général.

On peut laisser les tubes plus longtemps à l'étuve, mais, dans ce cas, les microbes se développent et viennent fausser les résultats.

Les globules à étudier doivent avoir été recueillis récemment et avec précaution. Il sera toujours et souvent indispensable de les laver dans l'eau salée à 7 ‰, puis de centrifuger; on répètera deux fois ce lavage et cette centrifugation, afin d'avoir sûrement éliminé le sérum qui les contenait et qui pourrait fausser les résultats. Les globules se réunissent en culot du fond du tube du centrifugeur; on les dilue dans une quantité d'eau salée isotonique, égale à la quantité de plasma qu'on a enlevé par la centrifugation.

Maintenant que nous possédons ces trois éléments : sérum à étudier, liquide de dilution, globules rouges réactifs, dans quelles proportions devons-nous les mélanger?

Si le sérum à étudier est isotonique au sérum normal, on peut, à la rigueur, laisser tomber dans 2 à 5 cc. de sérum une goutte d'émulsion de globules lavés.

Le plus souvent, on procède cependant de la façon suivante :

On place sur un porte-tube 10 à 12 tubes à séro-diagnostic, d'une contenance de 5 à 6 centim. cubes.

On met dans chaque tube 2 cc. par exemple de la solution salée à 7 ‰.

On fait tomber dans le premier tube 1 goutte du liquide à examiner, 2 dans le second et ainsi de suite jusqu'à 10; à la température de 15°, on a des résultats moins nets, et l'observation doit durer plus longtemps.

Pour apprécier le résultat après séjour à l'étuve, on peut examiner macroscopiquement l'aspect du tube; un tube rose et clair indique, en général, une hémolyse plus ou moins complète.

Cependant, au début, et dans tous les cas où on veut un résultat précis, il est préférable de centrifuger le tube et d'examiner le culot. On verra alors si les hématies sont intactes, ou bien si elles sont gonflées, transparentes; même dans les cas où l'hémolyse est totale, on ne retrouve pas de culot, et le liquide examiné teint en rose, par l'hémoglobine, ne présente que quelques débris cellulaires sans vestiges d'hématies.

Dans ces études sur l'hémolyse, les globules des animaux jeunes et sains peuvent être pris comme terme de comparaison, à peu près indifféremment. Les globules de chiens présentent toutefois une fragilité extrême, et il est souvent impossible de les avoir intacts après lavage et centrifugation. D'autre

part les sérums de chiens normaux peuvent hémolyser légèrement les hématies appartenant à d'autres chiens normaux.

S. Arrenhius et T. Madsen ont récemment proposé un moyen plus simple et plus rapide d'étudier le pouvoir hémolytique d'un sérum. On prend 25 cc. de globules lavés, on les émulsionne dans 1000 cc. d'eau salée à 8,5 ‰. On répartit dans des tubes 2 à 5 cc. de cette émulsion. On agite les substances hémolysantes, on laisse une heure à 37°, on centrifuge le liquide dans de la glace, et on dose la quantité de globules hémolysés d'après la colorimétrie.

Méthode de Chanel.

Dans les cas où on voudra obtenir un résultat très précis, on pourra employer la méthode de Chanel : numération des hématies avant et après l'intervention des hémolysines. Les liquides de dilution sont trois solutions à base de sulfate de soude, la 1^{re} solution est à 1/40^e, la 2^e à 1/80^e et la 3^e à 1/120^e.

On trouvera, dans la thèse de Veyrassat, des indications précises sur la mensuration de la résistance globulaire.

Nous donnons, en un tableau établi en partie d'après Bordet, en partie d'après nos recherches personnelles, la façon de se comporter des globules vis-à-vis d'un sérum donné.

La colonne verticale se rapporte au sérum, la colonne horizontale aux hématies; au point de jonction des deux colonnes se trouve le résultat demandé.

ACTION DES SERUMS ANIMAUX SUR LES GLOBULES D'AUTRES ESPÈCES

Titre du Mélange : 1 goutte de globules lavés et émulsionnés, 5 gouttes de serum.

	Globules de cobaye	Globules de lapin	Globules de rat	Globules de poule	Globules d'homme	Globules de pigeon	Globules de cheval	Globules de chien
Serum cobaye.....	H = 0 A = 0	H = ?		H = +	H = +			
Serum lapin.....	H = + A = +	H = 0 A = 0	H = 0 ou ?	H = +	H = +			
Serum rat.....	+	+	0					
Serum poule.....	+ = ?	A = ++++ résiste à 65°	+ +	0		+ +		+ +
Serum homme.....	+	+			0			+ ?
Serum pigeon.....		+ ?		+ ?	+ ?	0		
Serum cheval.....	+ +	+ +	+ + + +	+ +			0	
Serum chien... ..	+	+ + + +	+ + + +	A = + H = + + + + par le noyau				+

+ signifie hémolyse faible.	0 = Pas d'hémolyse.	A = Agglutination.
++ = hémolyse moyenne.	? = Hémolyse inconstante.	H = Hémolyse.
+++ = hémolyse forte.		

EXPERIENCE BASALE DE L'HÉMOLYSE (BUCHNER-BORDET).

COBAYE AYANT REÇU DANS LE PÉRITOINE 5 INJECTIONS DE 10^{cc}
DE SANG DÉFIBRINÉ DE LAPIN

Le sérum de ce cobaye agglutine à 1/15^e les hématies du lapin et les hémolyse en quelques minutes.

Ce sérum, chauffé à 55°, agglutine à 1/15^e les hématies du lapin et ne les hémolyse pas.

Si on ajoute du sérum frais de cobaye normal ou de lapin neutre, l'hémolyse réapparaît.

Le sérum de cobaye normal agglutine à 1/2 les hématies du lapin et ne les hémolyse pas

Le sérum actif de cobaye n'hémolyse pas le sang défibriné du cobaye neuf.

Ce sérum actif est toxique pour le lapin. Il tue à 2^{cc} dans la veine de l'oreille.

Dans la cavité péritonéale de ce cobaye les hématies de lapin sont détruites.

CHAPITRE IV

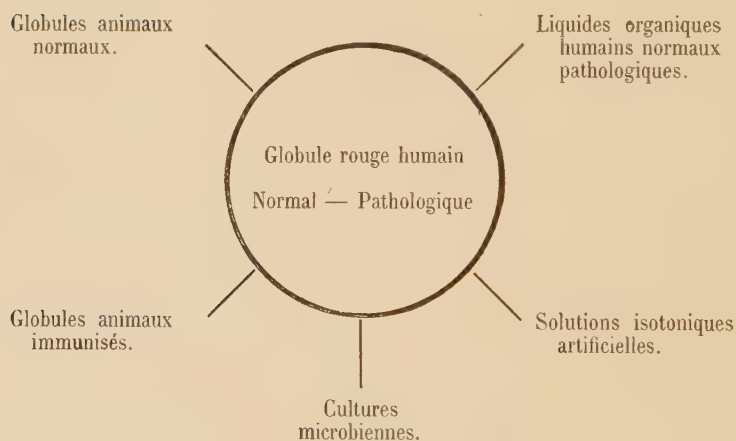
Applications cliniques

L'étude de l'hémolyse a déjà eu de nombreuses applications cliniques, et l'on peut déjà entrevoir le jour où la cytothérapie remplacera la sérothérapie. Par les albumines spécifiques qu'ils contiennent on peut espérer que les extraits d'organes malades conféreront aux animaux auxquels on les injectera une immunité plus grande que ne le font les cultures microbiennes ou les toxines. Celles-ci, développées en dehors de l'organisme, par des moyens perfectionnés, ne peuvent prétendre résumer les composés développés par un microbe vivant au sein de l'organisme, au milieu d'albumines *autres* que celles que le bactériologiste fournit à ses microbes dans les bouillons de culture. Les nouvelles antitoxines diphtériques obtenues en injectant aux animaux des cadavres de bacilles seraient,

d'après Wassermann, plus actives que les anciennes. L'hémolyse est actuellement un des moyens de mesurer le progrès fait par le sérum d'un animal dans la voie d'immunisation contre le sang d'une autre espèce ou contre des cellules.

Les applications cliniques peuvent s'appliquer à rechercher l'hémolyse des globules humains, normaux ou pathologiques, mis en présence des liquides organiques, normaux ou pathologiques, provenant de l'homme ou des animaux. On peut aussi étudier la façon de se comporter des globules humains vis-à-vis des cultures microbiennes.

Le tableau ci-dessous montre les diverses façons d'étudier le problème de l'hémolyse et de rechercher ce phénomène.



A. — HÉMOLYSE. — LIQUIDES ORGANIQUES HÉMOLYTIQUES
POUR LES HÉMATIES HUMAINES

1^o SÉRUMS PROVENANT D'ANIMAUX IMMUNISÉS

Bordet, en 1898, a montré qu'on pouvait obtenir un sérum hémolytique vis-à-vis du sang humain. Il injectait à des chèvres du sang humain défibriné. Après quelques injections de 10 à 25 cc., sous la peau, le sérum de chèvre qui, normalement, hémolyse les hématies humaines à 1 pour 2, est capable de les hémolyser à 1/40.

M. Cantacuzène a montré que le sérum de cobaye immunisé contre le sang de lapin, injecté au lapin sous la peau à la dose de 1/20 de cc. provoque chez le lapin une hyperglobulie très marquée. On peut ainsi augmenter les globules rouges du lapin pendant cinq à six semaines (De 5 millions de globules, les animaux passaient à 7 ou 8 millions).

Metchnikoff et Besredka traitèrent des lépreux par le sérum hémolytique humain.

Carasquilla et Laverde ont traité des lépreux par du sang de gros animaux injectés avec du sang de lépreux. Ils auraient obtenu un sérum antilépreux.

2^o LIQUIDES ORGANIQUES HUMAINS HÉMOLYTIQUES
POUR LES HÉMATIES HUMAINES

L'étude des propriétés hémolytiques du sérum humain a été faite par Neisser et Dœring, élèves d'Ehrlich. Ces auteurs ont examiné 20 sérums

humains provenant de malades divers (néphrites, comas, névralgies) et ils ont remarqué que la lysine de ces sérums était comparable à celle des animaux immunisés. Le complément, par exemple, est rendu inactif par un chauffage à 56° pendant 30 minutes. Chez un urémique, dans le coma, le pouvoir lysinant du sérum fut trouvé très diminué. J. Camus et Pagniez ont trouvé des différences très sensibles dans les hémolysines des sérums pathologiques vis-à-vis des hématies du lapin. Ces auteurs attribuent ces différences à des modifications individuelles.

L'hémolyse spontanée n'est pas rare dans les cavités de l'organisme où s'est fait un épanchement sanguin.

Les exemples sont nombreux et M. Bard a même proposé récemment de distinguer les épanchements pleuraux hémorragiques, hémolytiques pour les hématies du porteur (cancer) et les épanchements non hémolytiques (tuberculose, infections).

Le procédé est simple. M. Bard recueille quelques gouttes de liquide centrifuge et examine le culot et le liquide supérieur. Si le liquide, après centrifugation, donne la réaction à la teinture de gaïac il contient du sang et on aurait des raisons de penser au cancer.

Suivant M. Bard le phénomène d'hémolyse serait constant dans les liquides hémorragiques cancéreux, quand l'hémorragie est spontanée.

M. Julliard a remarqué que, pour les épanchements hémorragiques articulaires, le pouvoir hémoly-

lytique du liquide épanché diminue à mesure que l'épanchement vieillit.

La plus grosse objection à faire à M. Bard, et elle est capitale, c'est l'état microbien de ces épanchements. Si ces pleurésies ou péritonites hémorrhagiques étaient aseptiques le procédé serait utilisable; si, au contraire, les liquides contiennent des bactéries, celles-ci sont très lysinantes, nous le savons, et elles modifient la façon de se comporter des sérums vis-à-vis des globules.

Les mêmes objections s'appliquent au travail de Milian. Dans un cas de pleurésie gangréneuse où pullulaient de nombreux germes, l'hémolyse a été manifeste; elle l'était aussi dans un épanchement consécutif à un sarcome pleuro-pulmonaire; dans un cas d'hémothorax traumatique les hématies au vingtième jour étaient encore bien conservées.

Nous avons eu l'occasion d'examiner le liquide hémorrhagique provenant d'un kyste de l'ovaire tordu. Le liquide du kyste,ensemencé dans du bouillon ordinaire, resta stérile. Néanmoins l'hémolyse était intense, il ne persistait que quelques débris globulaires et le liquide donnait avec beaucoup de netteté la réaction au gaïac.

On peut donc dire que l'hémolyse spontanée est possible dans l'organisme même en dehors de l'intervention des microbes.

Dans deux cas de liquides pleurétiques non cancéreux, nous avons observé une absence totale d'hémolyse vis-à-vis des hématies humaines ce qui viendrait confirmer en partie l'opinion de M. Bard.

Voici ces deux cas :

B. S. Bruno.

Liquide pleurétique séreux (tuberculose) :

A 1/10 hémolyse, en 20 minutes, les hématies du lapin normal.

A la même dose, le liquide est inactif vis-à-vis des hématies humaines normales.

R. S. Bruno. — Pleurésie chez un rénal. Syphilis.

Le liquide agglutine, les hématies du lapin normal, sans hémolyse nette au bout de 1 heure à 28°.

Pas d'hémolyse sur l'hématie humaine.

Action de l'urine sur les hématies humaines.

L'urine réalise les deux types d'hémolyse : hémolyse physique par hypotonie, et hémolyse par substances nocives indéterminées.

Sabrazès et Fauquet ont montré que l'urine des adultes soumis au régime lacté était hypotonique. Ces urines contiennent, en effet, peu de chlorure (moins de 3 ‰).

Chez le nourrisson, ces mêmes auteurs avaient remarqué que la globulolyse est la règle, probablement pour la même raison physique.

Il existe cependant — Pagniez l'a bien montré — des urines susceptibles d'hémolyser les hématies humaines et dont l'isotonie est parfaite. Il y a donc dans ces cas des substances nocives : l'acide hippurique est du nombre. Pour obtenir une globulolyse, il faut employer de faibles quantités de sang.

Dans deux cas, Pagniez a observé une hémolyse par des urines contenant 4,8 ‰ de NaCl. De ces

examens, l'auteur conclut à la production d'hémoglobinurie d'origine urinaire. Mais il faut encore admettre, pour que cette hémoglobinurie spéciale se produise, qu'il y ait eu une hémorrhagie coïncidant avec une modification des urines. Un fait d'observation vient à l'appui de la conception de l'hémoglobinurie urinaire : c'est la présence, dans l'urine de ces malades, de nombreuses hématies altérées.

Pour élucider cette question des hémoglobinuries, nous avons injecté, dans les veines du lapin, des quantités variables de solution de glucose.

Les solutions variant entre 0,3 0/0, 0,62 0/0, 2,5 0/0, à la dose de 50 cc. dans les veines d'un lapin de 2 kilogrammes, nous ont toujours donné des hémoglobinuries très intenses. Les animaux survivaient très bien, après avoir eu pendant 24 à 48 heures des hémoglobinuries massives. Les urines donnaient une réaction nette au gaïac et contenaient, à l'examen microscopique, des hématies altérées.

3^e RÉSISTANCE DES HÉMATIES PATHOLOGIQUES A L'HÉMOLYSE

Chanel avait montré, en 1880, que les hématies des ictériques étaient plus résistantes à l'hypoosmose que les hématies normales. Déjà, en 1867, Johann Duncan avait remarqué la diminution de résistance des hématies des chlorotiques.

Les travaux de Mosso, de Maragliano, ainsi que le travail récent de Veyrassat ont remis la question à

l'ordre du jour. G. Lang, après Veyrassat, arrive aux mêmes conclusions concernant les hématies des anémiques.

Hématies dans l'anémie.

Veyrassat, après avoir étudié le sang de l'anémique (deux anémies essentielles, une botriocéphalique et quatre anémies cancéreuses), conclut que les hématies des anémiques sont hyporésistantes aux solutions salées physiologiques. Les hématies des cancéreux ont, au contraire, une résistance plus grande.

Lang donne une explication de ce phénomène. Les cellules cancéreuses produisent une substance hémolytique qui détruit beaucoup d'hématies. L'organisme lutte contre cette destruction et produit ainsi une anti-hémolysine qui vaccine partiellement les hématies restantes ou nouvellement formées contre les causes de destruction. Cette hypothèse nous paraît très vraisemblable.

Expérimentalement nous en avons vérifié la première partie.

Si on broie une tumeur néoplasique dans un liquide isotonique, on obtient un magma qui, filtré, donne un liquide rose trouble.

Ce liquide hémolyse les hématies humaines. Nous nous proposons, d'ailleurs, de revenir sur cette question dans un travail ultérieur.

Dans les anémies pernicieuses, Veyrassat a trouvé la résistance globulaire diminuée, Pagniez, étudiant le pouvoir hémolytique du sérum, l'a trouvé diminué

également vis-à-vis des hématies de lapin. Il semblerait (on ne peut pas de trois observations tirer de conclusions précises) que l'alexine est diminuée dans le sang de l'anémie pernicieuse et que cette diminution coïncide avec une moindre résistance de l'hématie à l'hémolyse.

Dans les leucémies et dans les infections où le nombre des leucocytes est très élevé, la quantité d'alexine n'est pas sensiblement accrue. Cette observation cadre mal avec la théorie de Metchnikoff admettant l'origine leucocytaire de l'alexine.

Dans un cas rapporté dans la thèse de Pagniez le sérum d'une jeune épileptique de 16 ans, qui mourut d'ailleurs dans une crise, contenait quatre à cinq fois plus d'alexine qu'un sérum normal.

Au cours des diverses infections, l'alexine varie ; elle semble diminuer quand la maladie tend à disparaître.

En général, au cours de la tuberculose pulmonaire, l'alexine paraît accrue. A la dose de trois à quatre gouttes de sérum dans 100 gouttes de solution salée à 7^o/100, on a une hémolyse intense avec le sang de lapin ou de chèvre.

B. — SÉRUMS LEUCOLYTIQUES

Il est plus difficile d'isoler les leucocytes et de préparer un sérum leucotoxique.

Besredka a réussi à tourner les difficultés en injectant à des cobayes des émulsions de ganglions et

de pancréas d'Aselli du lapin. Ces sérums leucotoxiques ne paraissent pas très stables, et leurs effets sont d'ailleurs variables, donnant tantôt une hypo tantôt une hyperleucocytose. D'ailleurs, pour pouvoir faire entrer dans la thérapeutique des leucémies ces sérums leucotoxiques, il faudrait individualiser leurs effets sur les divers leucocytes du sang. On n'a pas réussi à avoir des sérums mononucléotoxiques, ni des sérums polynucléotoxiques. Les sérums leucolytiques obtenus agissent sur les différentes espèces leucocytaires du sang et ils ne sont même pas toujours dépourvus d'action hémolytique sur l'hématie.

L'expérimentation est d'ailleurs très difficile. Si on prend, pour faciliter le problème, des animaux à sang froid ne possédant que des globules blancs (homard, linule), H. Noguchi a montré que ce sang blanc contient peu ou pas de substance hémolytique. Chez les mammifères on ne pourra expérimenter avec profit que quand on aura un moyen pratique d'isoler les leucocytes; les solutions acétiques faibles qui détruisent les hématies altèrent le leucocyte et ne peuvent pas donner une solution pratique.

CONCLUSIONS

I. — Les liquides non isotoniques au sérum sanguin détruisent les hématies, puis les leucocytes, si la différence d'isotonie est grande et si le contact des liquides est prolongé.

II. — Le sang normal est différent, suivant les individus, au point de vue de l'hémolyse; les hématies de quelques espèces (chien, cheval) sont très facilement hémolysées; d'autres espèces ont des hématies qui résistent mieux (homme, animaux à hématies nucléées).

III. — Le sérum d'un animal A hémolyse le sang des hématies d'un animal d'autre espèce B; cette hétérolyse peut être accrue dans des proportions considérables si on injecte à A du sang ou du sérum d'un animal appartenant à l'espèce B (Buchner, Bordet).

Ces réactions ne sont toutefois pas strictement spécifiques.

Il y a des espèces (chiens) dont les sujets peuvent normalement hétérolyser entre eux leurs hématies.

IV. — Les humeurs de l'organisme hémolysent les hématies du sujet qui les a fournies.

La salive, l'urine, le suc gastrique, la bile sont des hémolytiques.

Le liquide ascitique, au contraire, dans les ascites mécaniques, conserve bien les hématies du sujet et de l'espèce.

V. — Les liquides pathologiques : hydrocèle, kystes de l'ovaire hémolysent le sang du sujet qui les a fournis, mais cela faiblement et avec des variations qui ne nous paraissent pas devoir être en rapport avec la cause qui a déterminé l'épanchement.

Dans les poches de kystes ovariens tordus, le sang épanché, bien qu'aseptique, est hémolysé. Les leucocytes sont encore relativement conservés.

VI. — Les liquides obtenus par broyage d'un néoplasme sont hémolytiques pour les hématies humaines normales.

Vu :

Le président de la Thèse,
J. COURMONT.

Vu :

Le Doyen,
LORTET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 13 juillet 1903.

Le Recteur, président du Conseil de l'Université,
G. COMPAYRÉ.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANZILOTTI (G.). — Sulle proprietà tossiche dei nucleo proteidi renali. *Clinica Moderna*, 25 mars 1903.
2. ARLOING et COURMONT. — *Presse Médicale*, 1^{er} sept. 1900.
3. ARRHENIUS (S.) et MADSEN (T.). — Anwendung der physikalischen Chemie auf das Studium der Toxine und Antitoxine. *Zeit. f. physikal. Chemie*, XLIV, 7-62; 1903.
4. ASCOLI. — Isoagglutinin und Isolysin menschlicher Sera. *Münch. med. Woch.*, 1901, 42.
5. BARD (L.). — Diagnostic par l'hématolyse de la nature cancéreuse des pleurésies et des péritonites hémorrhagiques. *C.-R. Soc. Biol.*, 16 fév. 1901, p. 170.
6. — Du diag. par l'hématolyse de la nature cancéreuse des pleurésies et des péritonites hémorrhagiques. *Presse Méd.*, 1901, 15.
7. BAUMGARTEN. — Mikrosk. Unters. über Hämolyse in heterog. Serum. *Deut. med. Woch.*, 1901, p. 1241.
8. BELFANTI et CARBONE. — Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue estraneo. *Giorn. della R. Ac. de Tonno*, 1898, n° 8.

9. BELJAEFF (W.).—Über einige Eigenschaften agglutinierender sowie auch anderweitiger spezifischer Serumarten. *Cent. f. Bak., I, Orig.*, t. XXXIII, 1903, n° 4, 293-296, n° 5, 369-375.

Les sérums spécifiques précipités ne perdent pas leur pouvoir d'agglutiner après la précipitation.

Chez les animaux à sang chaud, les sérums présentent les mêmes constantes physiques que le sérum normal (P., T°, réfraction, etc). L'alcalinité du sang ne varie pas.

10. BIELONOVSKY (G.). — De l'action de différentes doses de S. hémolytique sur les élém. du sang. Th. de doct., St-Péter., 1902.

11. BESREDKA.—Les antihémolysives naturelles. *Ann. Past.*, 1901, 785.

12. BORDET (J.). — *Soc. roy. des Sc. méd. de Bruxelles*, IV, 1895.

La cytase hémolytique n'est pas libre dans l'organisme.

13. — Les leucoc. et les propr. actives des sérums chez les vaccinés. *Ann. de l'Ins. Pasteur*, 1895, p. 462.

14. — Sur l'agglut. et la dissolut. des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. *Ann. de l'Ins. Pasteur*, 1898, p. 688.

15. — Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques. *Ann. Past.*, 1900, p. 257.

16. — Sur le mode d'act. des sérums cytolytiques et sur l'unité de l'alexine dans un même sérum. *Ann. Past.*, 1901, p. 303.

17. — Aggl. et dissolut. des gl. rouges par le sérum. — *Ann. Past.*, XIII, 1899, p. 273.

18. BORDET et GENGOU. — Coagul. du sang et sérums anticoagulants. *Ann. Past.*, 1901, 129.

19. BUCHNER. — Weit. Untersuch. über die Bakterien feindlich und globulicid. Wirkung. des Blutserums. *Arch. f. Hyg.*, 1893, B. 17.

20. — Natur. Schutzeinricht. des Organismus. *Munch. med. Woch.*, 1899, n° 39.

21. — Zur Lehre de natür. Immunitat. *Mün. med. Woch.*, 1899, n° 43.
22. — Zur Kenntniss der Alexine, sowie der specif. bactericide und. specif. haemol. Wirkungen. *Munch. med. Woch.*, 1890, n° 9.
23. BULLOCH. — Ueber die Bezieh. zwischen Hämolysin und Bacteriolysin. *Cent. f. Bakt.*, 1901, XXIX, 725.
24. CALMETTE. — Contribution à l'étude du venin des serpents. *Ann. de l'Inst. Past.*, 1894, p. 275.
25. CAMUS et GLEY. — Recherches sur l'action physique du sérum d'anguille. *A. int. de Pharm.*, 1898, f. III, IV.
26. — Les animaux immunisés contre le sérum d'anguille élaborent des substances capables de protéger leurs globules contre l'action dissolvante de ce sérum toxique.
27. CAMUS et PAGNIEZ. — Variabilité de l'alexine dans les sérums pathologiques. *C.-R. Biologie*, 6 juillet 1901.
28. — Action globulicide de certaines urines et de quelques liquides de l'organisme. *C.-R. Biologie*, 20 octobre 1900.
29. — Influence de l'acidité et de l'alcalinité sur le pouvoir globulicide des urines. *C.-R. Biologie*, 17 novembre 1900.
30. CARRIÈRE (de Lille). — Le séro-diagnostic de la tuberculose. *C.-R. Biologie*, 6 juillet 1901.
31. CASTELLANI. — Ueb. das Verhaeltniss der Agglut. zu den Schützkoerpern. *Zeit. f. Hy.*, 1901, XXXVII, 381.
32. CANTACUZÈNE. — Variations quantitatives et qualitatives de globules rouges provoquées chez le lapin par les injections du sérum hémolytique, *Ann. Past.*, 1900, 378.
33. CHANEL. — Recherches sur la résistance des hématies. Th. Doct., Lyon 1880.
34. CHIARUTTINI. — *Riforma Medica*, 1893.
35. COHN. — Einige Bemerk. ueb die Basophilen Körnchen in der roth. Blutz. *Münch. med. Woch.*, 1900, 6.
36. CONRADI. — *Zeitschrift. für Hygiene*, 1900.
37. DAREMBERG. — De l'action destructive du sérum du sang sur les globules rouges. *Arch. de Méd. exp.*, 1891, V. 3.

38. DASTRE et STASSANO.—Antikinasé chez les parasites intestinaux. *C.-R. Soc. Biol.*, LV, 24 Janv., 1903, 130-32.
39. DELEZENNE (C).—Action du suc pancréatique et du suc intestinal sur les hématies. *C.-R. Soc. Biol.*, LV, 7 février 1903, 171-174.
40. — Contribution à l'étude des sérums antileucocytaires. *C.-R. Ac. des Sc.*, 1900, 14.
41. — Sérums névrotiques. *Ann. Past.*, 1900, 786.
42. — Sérum antihépatique. *Sem. Méd.*, 1900, 35.
43. DEUTSCH.—Zur Frage der Agglutininbildung. *Cent. f. Bakt.*, 1900, XXVII, 45.
44. DIEUDONNÉ. — Beiträge zum biolog. Nachweis von Menschenblut. *Münch. med. Woch.*, 1901, 14.
45. DONATH. — Zür Kenntniss der agglutinirenden Sub. *Wiener Klin. Woch.*, 1900, n° 22.
46. DUNGERN (Von). — Globulicide Wirkung. des thier. Organismus. *Münch. med. Woch.*, 1899, 605.
47. — Beiträge zur Immunitätslehre. *Münch. med. Woch.*, 1900, 962.
48. — Specif. Immunserum gegen Epithel. *Münch. med. Woch.*, 1899, 38.
49. EHRLICH. — Exper. Untersuchungen üb. Immunität üb. Abrin un Ricin. *Deut. Med. Woch.*, 1891, n°s 32, 44.
50. — Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung. *Fortschritte der Medic.*, 1897, n° 2.
51. EHRLICH et MORGENROTH. — Zur Theorie der Lysinwirkung. *Berl. Kl. Woch.*, 1899, n° 1.
52. — Ueber Haemolysine. *Berl. Kl. Woch.*, 1899, n° 22 ; 1900, n°s 21, 31 ; 1901, n°s 10, 21 et 22.
53. EISENBERG. — Ueb. Isoagglut. und Isolysin im mensch. Serum. *Wiener Kl. Woch.*, 1901, 42.
54. FUNCK. — Das antileucocyt. Serum. *Cent. f. Bact.*, 1900, XXVII, 670.
55. GENGOU (O). — Etude sur les rapports entre les agglutinines et les lysines dans le charbon. *Annales Pasteur*, XIII, 1899, p. 642.

56. — Contribution à l'étude de l'origine de l'alexine des sérums normaux. *Ann. Pasteur*, 1901, 68.
57. — Cytase hémolytique. *Ann. Pasteur*, XV, 68.
58. GRAWITZ. — Ueb. kornig. Degeneration der rothen Blutzellen. *Deut. med. Woch.*, 1899, n° 36.
59. GRYS. — *Pflügers Archiv.*, 1896.
60. HALBAN. — Agglutinations Versuche mit mutterl. und kindl. Blute. *Wien. med. Woch.*, 1900, 24.
61. HAMBURGER. — *Archives de Dubois-Reymond*, 1886-1887. *Zeitschrift für Biologie*, 1890; *Centralblatt für Physiologie*, 1893.
62. HÉDON. — Sur l'hémolyse par les glucosides globulicides et les conditions de milieu qui la favorisent ou l'empêchent. *Arch. int. de Pharmacod.*, 1901, 381.
63. HÉRICOURT et RICHET. — Action locale du sérum d'anguille. *C. R. Soc. Biol.*, 1897, p. 74.
64. HOFFMANN. — Ueber das Auftreten von Agglutinin, nach kubaner Infection. *Hyg. Rundschau*, 1903, 114.
65. HUTINEL. — Les sécrétions cellulaires. *Presse Médicale*, 13 novembre 1901.
66. JACOBY (M.). — Zur Frage der spezifischen Wirkung der intracellulären Fermente. *Beitr. z. chemisch. Phys. u. Path.*, t. III, 9, 10; 1903, 446, 450.
67. JANOWSKY. — *Klinische Wochens.*, 1899, St-Petersburg.
68. JAWEIN. — Zur Frage ub. d. Urspr. und die Bedeat. der basoph. Koern. *Berl. med. Woch.*, 1901, 901.
69. KAYSER (A.). — Ueber Bakterienhamolysine, in Besonderen das Colilysin. *Zeitsch., f. Hyg. u. Infekt.*, 42, 118, 1903.
70. KEMPER et POLLAK. — Die Wirkung des Botulismustoxin und seines specif. Antitoxin auf die Nervenzellen. *Deut. Med. Woch.*, 1897, n° 32.
71. KOSSEL. — Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung. *Fortschritte d. Med.*, 1897, n° 2.
72. — Zur Kenntniss des Antitoxinwirkung. *Berl. Kl. Woch.*, 1898, 8.

73. KRAUS. — Ueber das Vorkommen der Immunhæmoagglutinine und Immunhaemolysine in der Milch. *Wien. Kl. Woch.*, 1901, 30.
74. KRAUS, — Précipitines *Wiener Kl. Woch.*, 1897, n° 32, p. 736. — 1897. KRAUS découvre qu'en ajoutant du sérum antityphique au filtrat d'une culture de bacille d'Eberth on voit apparaître une *précipitine*.
75. KROMPECHER. — Injection du sang de *grenouille* au *lapin* : le sérum de lapin, dissout hématies et noyaux de la *grenouille* (hémolyse totale). *Cent. f. Bakt.* 1900, XXVIII, p. 588.
76. — Erythrocytenkerne losende Serum. *Cent. f. Bakt.* 1900, XXVIII, 588.
77. LABBE (M). — Action comparée des microbes et des toxines microbiennes sur le sang défibriné. *C. R. Biol.*, t. LV, 7 février 1903, 201-203.
78. LANDAU (H.). — Etudes sur l'hémolyse. *Ann. Pasteur*, 1903, 52.
79. LANDOIS. — Die Transfusion des Blutes, Leipzig, 1875.
80. LANDSTEINER. — Zur Kenntniss der specif. auf die Blutkörperch. wirk. Serum. *Cent. f. Bakt.*, 1899, XXV, 546.
81. LANG (G). — Ueber die Erhöhung der osmotischen Resistenz der rothen Blutkörper, bei einigen pathologischen Zuständen. *Mittheil. der Militar medicinischen Akademie*, 1902, p. 462.
82. — Die Resistenz d. rothen. Blutkörperchen gegen hypoisot. NaCl Loesungen bei Magenkrebs. *Zeits. f. Kl. Med.*, Bd 47, 1901, 153.
83. LACHTSCHENKO. — Ueb. Extraction von Alexinen aus Kannichenleucocyten mit dem Blutserum anderer Thiere. *Munch. med. Woch.*, 1899, 15.
84. LE MONNIER (J). — La pleurésie hémorrhagique cancéreuse. Contribution à l'étude cytoscopique. T. Paris, 1903.
85. LESNÉ. — Thèse Paris, 1899.
86. LEISDEMANN. — Action de certains poisons rénaux. *Ann. Pas.*, 1900, 49.

87. LINOSSIER et LEMOINE. — *C.-R. Biol.*, 1902, p. 276. Il y a des parentés entre les albumines d'une même espèce.
88. LITTEN. — Ueb. basoph. Körnungen in rothen Blutkörperch. *Deut. med. Woch.*, 1899, 44.
89. LOMBARD (J.-A.). — Contribution à l'étude physiologique du leucocyte. Thèse Paris, 1901.
90. LO MONACO E PANICHI. — Sul fenomeni del agglutinatione. *C.-R. R. Ac. Lincei*, 1900, 16 décembre.
91. LÆPER (M.). — Mécanisme régulateur de la composition du sang. Thèse Paris, 1903.
92. LUCATELLO (L.) et MALON (C.). — Di un siero leucolitico antileucemico. *Gazz. degli Osped.*, 25 janvier 1903.
93. MALKOFF. — Beitrag zur Frage der Agglut. der rothen Blutkörperchen. *Deut. Med. Woch.*, 1900, 14.
94. MANNABERG et DONATH. — *Deutsch Archiv. für Klin. Med.*, 1900.
95. MARSHALL (T.) et MORGENROTH (J.). — Ueber Anticomplemente und Antiämboceptoren normaler Sera und pathologischer Exsudate. *Zeit. f. Kl. Med.*, Bd 47, p. 279, 1902.
96. MELZER. — Ueber den Einfluss der Peritonealhöhle auf das hämol. Vermögen des fremden Serum. *Cent. f. Bact.*, 1901, XXX, 278.
97. METALNIKOFF. — Etudes sur la spermotoxine. *Ann. Past.*, 1900, 577.
98. — Ueb. hæmolyt, Serum durch Blutfütterung. *Cent. f. Bact.*, 1901, XXIX, 531.
99. MEICHNIKOFF (E.). — Résorption des cellules. *Ann. Past.*, 1899, p. 757.
100. — Sur les cytotoxines, *Ann. Past.*, 1900, p. 369.
101. — L'immunité dans les mal. inf. *Ann. Past.*, 1901, p. 263.
102. METCHNIKOFF et BESREDKA. — Rech. sur l'action de l'hémotoxine sur l'homme. *Ann. Past.*, 1900, 402.
103. MICHAELIS. — *Soc. Méd. interne de Berlin*, nov. 1900.
104. MILIAN. — De l'hémolyse dans les épanch. hémorrag. *C. R. Soc. Biol.*, 1901, 207.

105. MORGENROTH (J.). — Ueb. die Bindung hæmolytischer Ambozeptoren. *Munch. Med. Woch.*, n° 2, 61-62, 13-1, 1903. — La fixation des A. hém. sur les érythr est souvent très énergique.
106. MORO. — Biolog. Beziehung. zwischer Milch und Serum. *Wien. Kl. Woch.*, 1901, 44.
107. MOSSO. — Die gift. Wirk. des Serums der Mureniden. *Arch. f. exp. Pat.*, 1888, B 25.
108. MOXTER. — Ueb. eines specif. Immunserum gegen Spermatozoen. *Deut. Med. Woch.*, 1900, 4.
109. MULLER. — Ueb. Antihæmolsine. *Cent. f. Bact.*, XXIX, 175, 513.
110. — Ueb. Antihemolys. normaler Sera, *Cent. f. Bact.* 860.
111. NEFEDEIEFF. — Sérums néphrotoxiques. *Ann. Past.* 1901, 17.
112. NEISSER. — Ueber die Vielheit der im normaler serum vorkomenden Antikörper. *Deut. Med. Woch.*, n° 47.
113. NEISSER et DOERING. — Zur Kent. der hæmolyt. Eigenschaft. der mensch. Serums. *Berl. Med. Woch.*, 1901, 22.
114. NOGUCHI (Hidego). — The antihæmolytic action of the blood sera. *B. de l'Univ. de Pensylvanie*, XV, n° 9, 317, 330.

Le sérum sanguin et le lait exercent une action anti-hémolysante vis à vis des hémolysines végétales.

L'agglutination, la précipitation ne marchent pas de pair.

Les hémolysines sont peu abondantes ou pas dans le sérum des animaux à sang froid qui ne possèdent que des globules blancs (homard, limule).
115. NOLF. — Contrib. à l'ét. des sérums anti-hématiques. *Ann. Past.*, 1900, 297.
116. Le mécanisme de la globulolyse. *Ann. Past.*, 1900, 656.
117. OSTRIANINE. — Propriétés bact. du sérum sanguin pendant les maladies. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901, p. 266.
118. PAGNIEZ (P.). — Action exercée sur les globules rouges par quelques liquides normaux et pathologiques de l'organisme. *Thèse Doct. Paris*, 1902.

119. PHYSALIX et BERTRAND. — Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C. R. Soc. de Biol.*, 1895, p. 639.
120. PONFICK et BAMBERG. — Exp. beitrage zur Lehre von des Transf. des Blutes. *Wirsch. Arch.*, 1875, t. 64.
- 121-122. QUINTON (R). — Globule rouge nucléée et osmose de l'urée en solution. *C. R. Ac. des Sciences*, février 1901, 347 et 18 février, 432.
123. RAOULT. — Congrès Ass. Fr. pour avancement des sciences, Grenoble, 1889.
124. REMY. — Contribution à l'étude des substances actives des sérums normaux. Sur la pluralité des alexines. *Ann. Past.*, 26 mai 1903, 643.
125. RIBIERRE (P.). — L'hémolyse et la mesure de la résistance globulaire ; application à l'étude de la résistance globulaire dans l'ictère. Th. Paris, 1903.
126. RUFFER et CRENDIROPOULO. — Nouvelle méthode de prod. des hémolysines. *C. R. Biologie*, 10 Janv., 03, 6-8.
Le sérum du lapin hémolyse, à 1/150, les hématies humaines. Les hématies du cobaye sont influencées à 1/75.
127. SABRAZÈS et FAUQUET. — Propriétés hématolytiques de la première urine du nouveau-né. *C. R. Soc. de Biol.*, 30 mars 1901, 372.
128. — Action de l'urine sur les hématies. *C. R. Soc. de Biol.*, 9 mars 1901, 273.
129. SACHS. — Immunisierungsversuche mit Immunkörperbeladener Erythrocyten. *Centr. f. Bakt.*, 1901, XXX, 491.
130. SACHS (H.). — Die Cytotoxine des Blutserums *Biochem-Centralbl*, 13 juillet 1903, 573.
131. SCHATTENFROH. — *Arch. f. Hyg.*, 1899. XXXV, 135.
Les extraits de L. polynucléaires sont dépourvus de propriétés hémolysantes. *Munch. Med. Woch.*, 1898.
132. SCHIBAYAMA. — Einige Exp. üb. Haemolysine. *Centr. f. Bakt.*, 1901, B. XXX, 760.
133. SCHÜTZE. — Beitrage zur Kent. der zelloes. Sera. *Deut. Med. Woch.*, 1900, 26.

134. SCHUTZE et SCHELLER. — Exprim. Beitrag. zur Kentn. der im normaler Serum vork. globulic. Substanzen. *Zeit.f. Hyg.*, 1901, XXXVI.
 135. — Ueb. die Regenerat aufgebrauchter globulicid. Substanzen im inficirten Organ. *Zeit.f. Hyg.*, 1901, XXXVI, 459.
 136. SIERADSKI. — Przegląd leżarsci, 1901, 25-29.
 137. STERN. — Ueb. den Nachweis mensch. Blutes durch ein Antiserum. *Deutsch. Med. Woch.*, 1901, 9.
 138. SZCZAWINSKA (Mlle W.). — Sérums cytotoxiques. Th. Paris, 1902.
 139. TARASSEWITCH. — Sur les cytases. *Ann. Past.*, 1902, 127.
 140. TARCHETTI. — Di un nuovo metodo per differenzione il sangue umane. *Gaz. degli ospedali*, 1900, 46.
 141. TCHISTOWITCH. — Etude sur l'immunis. contre le sérum d'anguille. *Ann. Past.*, 1899, p. 406.
 142. TROMSDORFF. — Können von lebenden leucocyten alexine secernit werden *Arch. f. Hyg.*, 1901, XL.
 143. UHLENHUT. — Zur Kenntniss der gift. Eigenschaft. des Blutserums. *Zeits. f. Hyg.*, 1897, Bd XXVI.
 144. UMBER (F.). — Die Klinischpathologische Bedeutung der Autolyse. *Berl. Kl. Woch.*, 2 mars 1903.
 145. VAN-T-HOFF. — *Berl. Klin. Woch.*, 1897, page 745.
 146. VAQUEZ et MARCANO. — Des modificat. des élém. fig. du sang de l'hémoglobinurie. *Arch. de Méd. exp.*, 1896, p. 56.
 147. VEYRASSAT. — Résistance des hématies dans l'anémie. *Lyon Médic.*, 22 juin 1902; 929 et th. de Doct., Lyon, 1902.
 148. WASSERMANN. — Ueber die Ursachen der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber gewissen Infectionen. *Deut. med., Woch.* 1901, n° 1.
 149. — Experiment. Beitrage zur kenntniss der natürlich und künstlich. Immunitaet. *Zeit.f. Hyg.*, 1901, XXXVII, 173.
 150. WEHRMANN (C). — Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1897, 810.
- La notion de spécificité des toxines et des sérums antitox. est loin d'être aussi étroite qu'on l'avait cru.

151. WEINLAND (E). — Ueber Antifermente. *Zeit f. Biol.*, XLIV, 1, 1902, 1, 16.

Il existe, dans les vers intestinaux, des antiferments qui empêchent la digestion.

Ces antiferments, ajoutés à de la pancréatine commerciale, empêchent ou retardent la digestion de la fibrine.

152. WEICHARDT. — Etudes sur l'antispermatozine. *Ann. Past.*, 1901, 11.

153. WEICHARDT. — Ueber die Syncytiotoxine. *Hyg. Rundschau*, 1903, 491.

154. VIDAL et LE SOURD. — *Société Médicale des Hôpitaux*, 1901, 5 juillet.

155. WECHSBERG. — *Wien. Klin. Woch.*, 1901.

156. WILDE. — Ueber die Absorpt. der Alexine durch abgetödt. Bacterien. *Berl. med. Woch.*, 1901, p. 818.

157. ZIEMKE. — Zur Unterscheid v. Menschen und Thierblut durch ein specif. Sér. *Deut med. Woch.*, 1901, 26.
-

TABLE DES MATIÈRES

Préface	7
CHAPITRE PREMIER	9
Définition	9
Historique	12
Tableau des synonymies	12
Hémolyse des hématies normales	13
— — nucléées	15
CHAPITRE II	17
Mécanisme de l'hémolyse	17
Hémolyse par les substances chimiques et par les alcaloïdes	18
Hémolyse par les sérums	21
Théories de l'hémolyse	28
CHAPITRE III	33
Technique	33
Préparation des animaux	33
Mensuration du pouvoir hémolytique	35

CHAPITRE IV	41
Applications à la Clinique.....	41
A. HÉMOLYSE. — Liquides organiques hémolytiques pour les hématies de l'homme....	43
1 ^o Sérums provenant d'animaux immunisés..	43
2 ^o Liquides humains hémolytiques.....	43
Le sérum humain.....	44
Liquides pleurétiques, péritonéaux.....	45
Urine.....	46
3 ^o Résistance des hématies pathologiques à l'hémolyse.....	47
Hématies des anémies.....	48
B. LEUCOLYSE. — Sérums leucotoxiques.....	49
BIBLIOGRAPHIE.....	53
TABLE DES MATIÈRES... ..	65

